

PERFIL DA PROTEÍNA ANEXINA A1 NA COLITE, ADENOMA E ADENOCARCINOMA DE CÓLON

ANNEXIN A1 PROTEIN PROFILE IN COLITIS, ADENOMA AND DENOCARCINOMA OF THE COLON

PERFIL PROTEICO DE ANEXINA A1 EN COLITIS, ADENOMA Y ADENOCARCINOMA DE COLON

Lara Pereira Junqueira Magalini*, Leandro Mechi dos Santos*, Rodolfo Teruo Campos Takaoka*, Nathália Dias Sertório*, Karina Mirandola de Lazari**, Helena Ribeiro Souza***, Melina Mizusaki Iyomasa-Pilon****, Sara de Souza Costa*****, Lucas Possebon*****, Ana Paula Girol*****

Resumo

Introdução: Investigações têm mostrado que a proteína anti-inflamatória Anexina A1 (ANXA1) está associada ao processo de invasão tumoral e que suas ações podem ser mediadas pelo receptor para peptídeos formilados (FPR), metaloproteinases (MMP-2 e MMP-9) e enzima de ciclooxigenase (COX-2). Por essas razões o objetivo do trabalho foi verificar a expressão da ANXA1 e dos receptores FPR1 e FPR2 em processos inflamatórios e tumorais do cólon. **Material e Métodos:** A detecção das proteínas foi realizada, por imuno-histoquímica, de biópsias de inflamação de cólon (colite) e tumores benignos (adenomas) e malignos (adenocarcinomas) de cólon, provenientes dos arquivos do Serviço de Patologia do Centro Universitário Padre Albino (UNIFIPA). As seções foram incubadas com os anticorpos primários policlonais anti-ANXA1 (1:1000), anti-FPR1, anti-FPR2 (1:500), anti-COX-2 (1:500), anti-MMP-2 (1:350) e anti-MMP-9 (1:350), reveladas com DAB e contracoloradas com Hematoxilina. As quantificações foram feitas por densitometria e as análises estatísticas realizadas pela ANOVA e *post test* de Bonferroni. **Resultados:** Nossas análises imuno-histoquímicas e densitométricas mostraram aumento da expressão de ANXA1, FPR1 e COX-2 nos casos de colite, adenoma e adenocarcinoma, comparados a margem normal. Não houve imunorreatividade para FPR2 em nenhuma das condições clínicas estudadas. Também, foi observado aumento de MMP-2 nos casos de colite e adenocarcinoma e aumento de MMP-9 no adenocarcinoma. Os dados mostram a correlação positiva da proteína ANXA1 com o receptor FPR1, COX-2 e MMP-2 nas biópsias de colite. **Conclusões:** A ANXA1 pode interagir de maneira específica com o receptor FPR1, COX-2 e MMP-2 nos processos inflamatórios e no desenvolvimento tumoral do cólon.

Palavras-chave: Inflamação. Tumor colorretal. Receptor para peptídeos formilados. Ciclo-oxigenase 2. Metaloproteinases.

Abstract

Introduction: Investigations have shown that the anti-inflammatory protein Annexin A1 (ANXA1) is associated with the process of tumor invasion and that its actions can be mediated by the receptor for formylated peptides (FPR), metalloproteinases (MMP-2 and MMP-9) and cyclooxygenase enzyme (COX-2). For these reasons, the objective of the work was to verify the expression of ANXA1 and the FPR1 and FPR2 receptors in inflammatory and tumor processes of the colon. **Material and Methods:** Detection of proteins was carried out, by immunohistochemistry, from biopsies of colon inflammation (colitis) and benign (adenomas) and malignant (adenocarcinomas) colon tumors. The material was obtained from the archives of the Pathology Service of Padre Albino University Center (UNIFIPA). The sections were incubated with the primary polyclonal antibodies anti-ANXA1 (1:1000), anti-FPR1, anti-FPR2 (1:500), anti-COX-2 (1:500), anti-MMP-2 (1:350) and anti-MMP-9 (1:350), revealed with DAB and counterstained with Hematoxylin. Quantifications were made by densitometry and statistical analyzes were carried out by ANOVA and Bonferroni *post test*. **Results:** Our immunohistochemical and densitometric analyzes showed increased expression of ANXA1, FPR1 and COX-2 in cases of colitis, adenoma and adenocarcinoma, compared to normal margins. There was no immunoreactivity for FPR2 in any of the clinical conditions studied. Also, an increase in MMP-2 was observed in cases of colitis and adenocarcinoma and an increase in MMP-9 in adenocarcinoma. The data show the positive correlation of the ANXA1 protein with the FPR1, COX-2 and MMP-2 receptor in colitis biopsies. **Conclusions:** ANXA1 can specifically interact with the FPR1, COX-2 and MMP-2 receptor in inflammatory processes and colon tumor development.

Keywords: Inflammation. Colorectal tumor. Receptor for formylated peptides. Cyclooxygenase 2. Metalloproteinases.

* Egressos do curso de Medicina do Centro Universitário Padre Albino (UNIFIPA), Catanduva-SP.

**Acadêmica do curso de Medicina do Centro Universitário Padre Albino (FAMECA/UNIFIPA), Catanduva-SP.

***Bióloga, mestre e doutora em Biociências pelo Programa de Pós-Graduação do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE/UNESP) de São José do Rio Preto-SP. Técnica dos Laboratórios de Histopatologia e Imuno-histoquímica do Centro Universitário Padre Albino (UNIFIPA), Catanduva-SP.

****Bióloga, técnica do Centro de Pesquisa Experimental e Clínica (CEPEC) do Centro Universitário Padre Albino (UNIFIPA), Catanduva-SP.

*****Biólogos, mestres e doutores em Biociências pelo Programa de Pós-Graduação do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE/UNESP) de São José do Rio Preto-SP. Docentes das disciplinas de Biologia Celular, Histologia e Embriologia do Centro Universitário Padre Albino (UNIFIPA), Catanduva-SP.

*****Bióloga, mestre em Morfologia pela UNIFESP, doutora em Genética, área de concentração Biologia Celular e Molecular e pós-doutora em Imunomorfologia pela UNESP de São José do Rio Preto-SP. Professora (nível I) das disciplinas de Biologia Celular, Histologia e Embriologia da UNIFIPA e docente das Pós-Graduações em Biociências, UNESP de São José do Rio Preto-SP e em Biologia Estrutural e Funcional, UNIFESP de São Paulo-SP. Contato: anapaula.girol@unifipa.com.br

Resumen

Introducción: Investigaciones han demostrado que la proteína antiinflamatoria Anexina A1 (ANXA1) está asociada al proceso de invasión tumoral y que sus acciones pueden ser mediadas por el receptor de péptidos formilados (FPR), metaloproteinasas (MMP-2 y MMP-9) y la enzima ciclooxigenasa (COX-2). Por estos motivos, el objetivo del trabajo fue verificar la expresión de ANXA1 y de los receptores FPR1 y FPR2 en procesos inflamatorios y tumorales del colon. **Material y Métodos:** La detección de proteínas se realizó, mediante inmunohistoquímica, a partir de biopsias de inflamación de colon (colitis) y tumores benignos (adenomas) y malignos (adenocarcinomas) de colon, del archivo del Servicio de Patología del Centro Universitario Padre Albino (UNIFIPA). Las secciones se incubaron con los anticuerpos policlonales primarios anti-ANXA1 (1:1000), anti-FPR1, anti-FPR2 (1:500), anti-COX-2 (1:500), anti-MMP-2 (1:350) y anti-MMP-9 (1:350), revelados con DAB y contrateñidos con hematoxilina. Las cuantificaciones se realizaron mediante densitometría y los análisis estadísticos se realizaron mediante ANOVA y *post test* de Bonferroni. **Resultados:** Nuestros análisis inmunohistoquímicos y densitométricos mostraron una mayor expresión de ANXA1, FPR1 y COX-2 en casos de colitis, adenoma y adenocarcinoma, en comparación con los márgenes normales. No hubo inmunorreactividad para FPR2 en ninguna de las condiciones clínicas estudiadas. Además, se observó un aumento de MMP-2 en casos de colitis y adenocarcinoma y un aumento de MM-9 en adenocarcinoma. Los datos muestran la correlación positiva de la proteína ANXA1 con los receptores FPR1, COX-2 y MMP-2 en biopsias de colitis. **Conclusiones:** ANXA1 puede interactuar específicamente con los receptores FPR1, COX-2 y MMP-2 en procesos inflamatorios y desarrollo de tumores de colon.

Palabras clave: Inflamación. Tumor colorrectal. Receptor de péptidos formilados. Ciclooxigenasa 2. Metaloproteinasas.

INTRODUÇÃO

O adenocarcinoma de cólon é uma das principais causas de mortalidade por câncer em todo o mundo, sendo o terceiro tipo de câncer mais incidente e está associado à dieta hipercalórica, álcool, tabagismo e inatividade física¹⁻³. Embora os métodos de triagem de colonoscopia levarem à redução do risco da mortalidade por câncer de cólon, a taxa de morte ainda permanece elevada^{2,4}.

Alguns tratamentos adjuvantes melhoraram a sobrevida em pacientes com tumores nódulo metastáticos de estágio III, porém existe controvérsia quanto ao uso dessa terapia em pacientes com câncer de cólon estágio II^{5,6}. Assim, o desenvolvimento de biomarcadores capazes de identificar pacientes com tumores iniciais de alto risco são os mais indicados para intervenção terapêutica adequada.

Em muitas neoplasias a inflamação desempenha um papel fundamental na iniciação, progressão e metastatização do tumor^{7,8}. A inflamação crônica por colite ulcerativa e doença de Crohn está associada com aumento das taxas de câncer de cólon⁹⁻¹¹. Quando a reação inflamatória se torna crônica, este processo proporciona um microambiente ideal para as células mutadas e para o escape da vigilância imune^{12,13}. Além disso, a infecção crônica ou injúria ao tecido promovem a transformação celular ocasionando danos

ao DNA ou a liberação de fatores pró-inflamatórios produzidos pelas células tumorais que desencadeiam a inflamação crônica e o crescimento tumoral.

A proliferação de células mutadas em um ambiente rico em células inflamatórias e em fatores de crescimento promove a potencialização do risco neoplásico¹³⁻¹⁵. No início do processo neoplásico, as células inflamatórias e os seus mediadores sintetizados demonstraram capacidade regulatória durante o crescimento, a migração e a diferenciação de todos os tipos celulares do microambiente tumoral, sobretudo as células neoplásicas, endoteliais e fibroblastos¹⁵⁻¹⁷. Estudos demonstraram aumento da expressão das metaloproteinasas de matriz 2 e 9 (MMP-2 e MMP-9) em amostras de tumor colorretal e consequente progressão tumoral¹⁸.

As investigações que relacionam a proteína anti-inflamatória Anexina-A1 (ANXA1) à regulação do crescimento celular, juntamente com a sua participação na cascata de sinalização e adesão celular, têm demonstrado um alvo importante para as pesquisas relacionadas com o desenvolvimento tumoral¹⁹⁻²¹.

No adenocarcinoma de cólon alguns pesquisadores mostraram a diferenciação celular associada com a superexpressão da ANXA1, contudo não houve correlação entre os níveis de ANXA1 e a tumorigênese²². Enquanto, outras investigações

associaram a expressão da ANXA1 com prognósticos mais pobres de adenocarcinoma de cólon e resistência ao tratamento²³⁻²⁵.

Ainda, estudo em modelo animal de colite tratados com o peptídeo da ANXA1 tem mostrado a redução da inflamação de cólon mediados pela ativação da via do fator nuclear NF- κ B, mieloperoxidases, ciclo-oxigenase 2 (COX-2) e citocinas pró-inflamatórias²⁶. Como também, a atuação da proteína ANXA1 por meio da ativação do receptor para peptídeos formilados 1 (FPR1)²⁶.

Como exposto anteriormente, os recentes avanços na pesquisa dos tumores do sistema digestório aumentaram o entendimento dessa neoplasia. Contudo, as classificações histopatológicas de rotina não são suficientes para indicar as estratégias terapêuticas mais adequadas, o que estimula a pesquisa por biomarcadores. Por essas razões o estudo da expressão da proteína ANXA1 nos tumores gástricos e de cólon correlacionada a expressão de marcadores de inflamação poderá possibilitar a aplicação da ANXA1 como um novo marcador prognóstico.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção do material

As análises foram realizadas com biópsias de processos inflamatórios do cólon (colite), adenoma e adenocarcinoma (n=20 de cada tipo) provenientes dos arquivos do Serviço de Patologia, do Centro Universitário Padre Albino (UNIFIPA), dos anos de 2005 a 2015, após avaliação e aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP-UNIFIPA Protocolo 73/11).

Análises histopatológicas e imuno-histoquímicas

Fragmentos de biópsias foram utilizados para a obtenção de cortes de 5 μ m, processados e corados pela Hematoxilina-Eosina (HE) para estudo histopatológico.

As seções foram processadas para recuperação antigênica com tampão citrato pH 6,0, bloqueio da atividade da peroxidase endógena e incubação com os anticorpos primários policlonais de coelho: anti-ANXA1 (1: 1000), anti-COX-2 (1: 500), anti-FPR1 (1: 500), anti-FPR2 (1:500), anti-MMP-2 (1:350) e anti-MMP-9 (1:350) (Zymed Laboratories, Cambridge, UK) durante 12 horas. Estes foram então incubados com o anticorpo secundário

biotinilado (Histostain Kit, Invitrogen) e imersos num complexo conjugado de estreptavidina-peroxidase. O substrato diaminobenzidina (DAB Kit, Invitrogen) foi usado para o desenvolvimento e, a partir daí, os cortes foram corados com Hematoxilina. As proteínas foram quantificadas por densitometria como unidades arbitrárias de 0 a 255 usando o analisador de imagem *Leica Image Analysis*²⁷.

Análise estatística

Os resultados foram submetidos à análise descritiva e determinação da normalidade. Posteriormente, utilizou-se a Análise de Variância (ANOVA), seguida do teste de Bonferroni. Anx1 foi correlacionado a COX-2, FPR1, MMP-2 e MMP-9 pelo teste de Pearson. Todos os valores foram expressos como média \pm S.E.M. e valores de P menores que 0,05 foram considerados estatisticamente significantes. Os resultados da correlação foram indicados como positivos ou negativos²⁷.

RESULTADOS

As análises imuno-histoquímicas mostraram aumento significativo da imunorreatividade de ANXA1, FPR1 e COX-2, especialmente no epitélio, nos casos de colite e neoplasias (Adenoma e Adenocarcinoma), comparado a margem normal (Figura 1). Não houve imunorreatividade para FPR2 em nenhuma das condições clínicas estudadas (Figura 1H). O controle da reação (Figura 1L) confirmou a especificidade da reação.

Análises estatísticas indicam aumento significativo da expressão da ANXA1 ($p < 0,001$) nas biópsias de colite, adenoma e adenocarcinoma (Figura 1A, B, C e M), comparados a margem (Figura 1D). Ainda, foi possível observar nas mesmas biópsias esse mesmo aumento com relação ao FPR1, especialmente nos tumores (Figuras 1E, F, G e M). Similarmente, a expressão da COX-2 aumenta ($P < 0,01$) nas condições de colite, adenoma e adenocarcinoma (Figuras 1I, J, K e M).

As expressões das proteínas mostraram correlação positiva entre o ANXA1 e FPR1 na colite e no adenoma. Também foi possível observar correlação positiva entre a ANXA1 e COX-2 nas biópsias de inflamação (Tabela 1).

Figura 1 – Modulação das expressões da ANXA1, FPR-1 e COX-2 em inflamação (A, E e I), adenoma (B, F e J) e adenocarcinoma no cólon (C, G e K). Margem do tecido (D) FPR-2 (H) e Controle de reação (L). Contra corado com Hematoxilina. Barras: 10 µm. Valores expressos como média ±S.E.M. * p<0,05; ** p<0,01; ***p<0,001 vs margem.

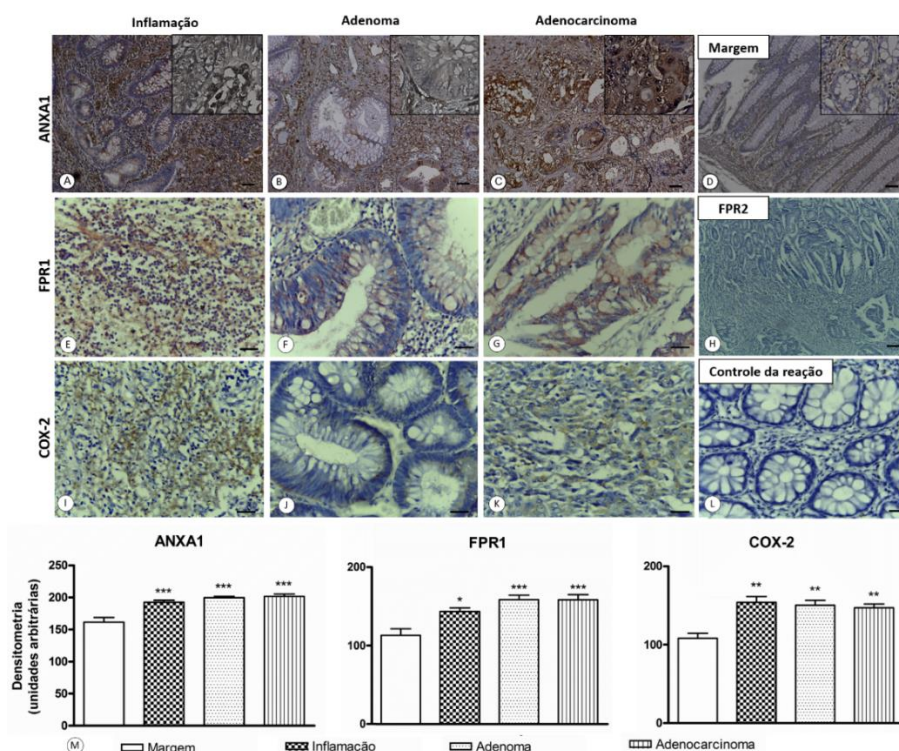


Tabela 1 - Biópsias de inflamação

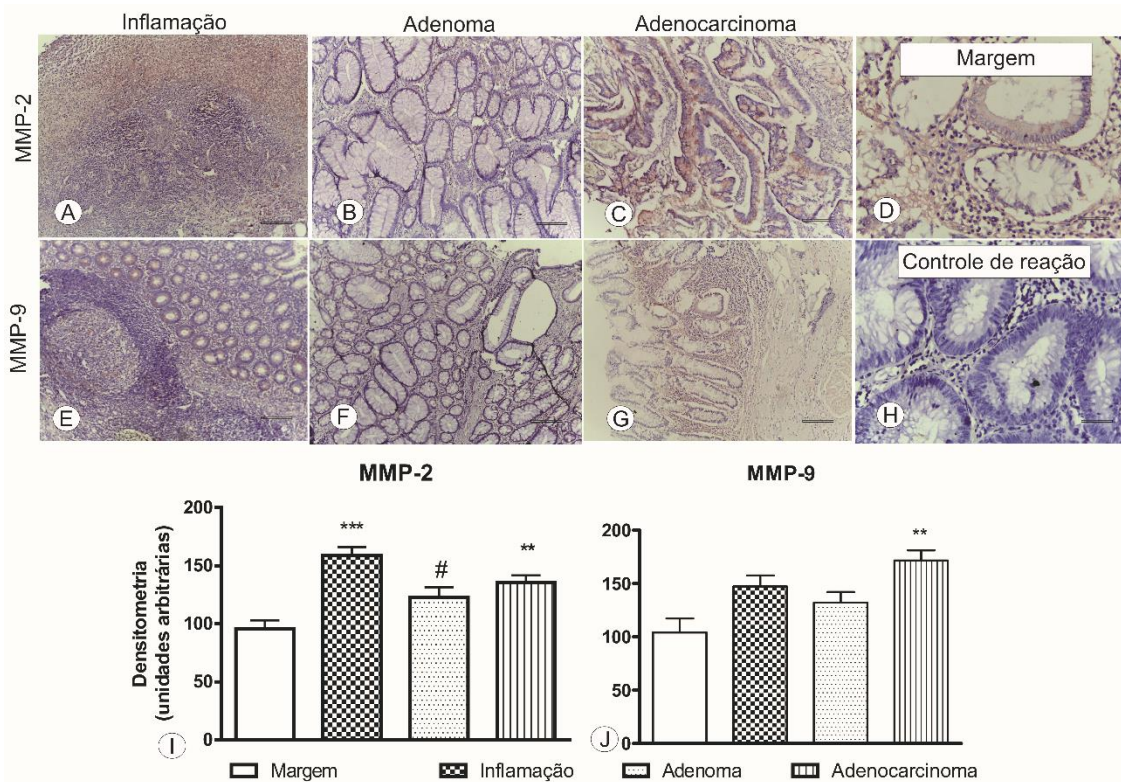
ANXA1	FPR1	COX-2	MMP-2	MMP-9
Margem	133.4±4.588 R = 0.2220 P = 0.5376	108.1±6.543 R = -0.1032 P = 0.7767	95.90±7.215 R = -0.4122 P = 0.2365	104.0±13.31 R = -0.3620 P = 0.3041
Colite	185.4± 11.90 R = 0.7027 P = 0.0234 *	182.8± 4.509 R = 0.7724 P = 0.0088 **	184.1± 4.625 R = 0.8674 P = 0.0012 **	147.2± 10.30 R = 0.05185 P = 0.8869
Adenoma	168.7± 9.681 R = 0.6459 P = 0.0437*	162.9± 8.099 R = -0.005017 P = 0.9890	131.1± 15.89 R = 0.09318 P = 0.7979	142.9± 11.35 R = 0.2254 P = 0.5313
Adenocarcinoma	146.1± 8.585 R = 0.4168 P = 0.2308	156.3± 5.873 R = 0.001319 P = 0.9971	126.1± 7.477 R = -0.02669 P = 0.9417	161.5± 14.09 R = -0.01315 P = 0.9712

R=Coefficiente de Correlação; P = valor de p: Correlação de Person; *diferença significativa

Nas análises de imuno-histoquímica de MMP-2 foram observados aumentos nas biópsias de colite (p<0,001) (Figuras 2A, D e I) e adenocarcinoma (p<0,01) (Figuras 2C e I) comparados a margem. Ainda, foi observada redução significativa da expressão de MMP-2 nas biópsias de adenoma comparadas a inflamação

(P<0,05) (Figuras 2B e I). A MMP-9 foi aumentada apenas no adenocarcinoma (p<0,001) (Figuras 2G e I).

Figura 2 – Modulação das expressões da MMP-2 e MMP-9 em inflamação (A e E), adenoma (B e F) e adenocarcinoma no cólon (C e G). Margem do tecido (D) e Controle de reação (H). Contra corado com Hematoxilina. Barras: 10 µm. Valores expressos como média ±S.E.M. ** p<0,01; ***p<0,001 vs margem e # p<0,05 vs inflamação.



DISCUSSÃO

OS resultados obtidos corroboram com estudos que apontaram a expressão desregulada da proteína ANXA1 na carcinogênese gástrica e da enzima COX-2 no desenvolvimento dos tumores colorretais^{4,28-30}. Ainda, foi possível observar aumento da MMP-2 e MMP-9 nas biópsias, em especial nos casos de colite e adenocarcinoma. Nossas análises também indicam a correlação da ANXA1/COX-2, ANXA1/MMP2 e a interação ANXA1/FPR1 em condições de inflamação e patológicas do cólon.

O aumento na expressão da proteína ANXA1 nas biópsias de inflamação, adenoma e adenocarcinoma de cólon reforçam outras investigações que indicaram o aumento da ANXA1 em casos de tumores gastrointestinais e a contribuição da proteína para progressão no desenvolvimento desse tipo de câncer^{26,31}. Em outra investigação, nosso grupo de pesquisa também mostrou que as ações da ANXA1 no processo inflamatório e processos neoplásicos do esôfago e estômago são mediados especificamente pelo receptor FPR1⁷.

Com relação a expressão da enzima COX-2, a

imunomarcagem foi elevada na colite e no adenocarcinoma. Estudos indicam a maior expressão e atuação da COX-2 em casos de doenças específicas com sobrevida curta²⁹. A superexpressão da COX-2 também foi observada no carcinoma esofágico²⁷. Além disso, estudos observacionais demonstraram que o uso de aspirina e do inibidor da COX-2 antes ou depois do diagnóstico de câncer colorretal foi associado a um risco menor de doença recorrente^{32,33}.

As análises realizadas ainda indicaram aumento da expressão de MMP-2 e MMP-9 nos casos de colite e adenocarcinoma. O RNAm, expressão e/ou a atividade de MMP2 e MMP9 foram encontrados aumentados em amostras de tumor colorretal em comparação com a mucosa colônica normal^{18,34}. A elevada variabilidade dos níveis de atividade de MMP2 e MMP9 entre diferentes pacientes, pode sugerir seu possível papel na progressão do tumor¹⁸.

Uma investigação indicou a ANXA1 como moduladora da MMP-2 em casos de carcinoma escamoso do esôfago regulado por miR-196a³⁵. Outros pesquisadores indicam a proteína ANXA1 como um regulador positivo da expressão de MMP-9 e invasão de

células de câncer em casos de tumores de mama por meio da ativação da via do NF- κ B³⁶.

CONCLUSÃO

No estudo foi possível mostrar a superexpressão da ANXA1 nas biópsias de inflamação (colite), tumor benigno (adenoma) e tumor maligno (adenocarcinoma). A mesma proteína atua pelo receptor FPR1 e ainda pode estar relacionada com a modulação das enzimas COX-2, MMP-2 e MMP-9. Esses dados reforçam o envolvimento destas proteínas nas patologias gastrointestinais e indicam o uso da ANXA1 como possível marcador prognóstico.

REFERÊNCIAS

- Sung H, Ferlay J, Siegel R, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J. Clin.* 2021;71(3):209-49.
- Instituto Nacional de Câncer (Brasil). Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA; 2022.
- Wilson LF, Baade PD, Green AC, Jordan SJ, Kendall BJ, Neale RE, et al. The impact of changing the prevalence of overweight/obesity and physical inactivity in Australia: an estimate of the proportion of potentially avoidable cancers 2013-2037. *Int J Cancer.* 2019;144(9):2088-2098.
- Doubeni CA, Corley DA, Quinn VP, Jensen CD, Zauber AG, Goodman M, et al. Effectiveness of screening colonoscopy in reducing the risk of death from right and left colon cancer: a large community-based study. *Gut.* 2018; 67(2):291-8.
- Chua YJ, Zalberg JR. Progress and challenges in the adjuvant treatment of stage II and III colon cancers. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2008; 8(4):595-604.
- Wolfen BM, Mayer RJ. Systemic treatment of colorectal cancer. *Gastroenterol.* 2008; 134(5):1296-310.
- Hussain SP, Harris CC. Inflammation and cancer: an ancient link with novel potentials. *Int J Cancer.* 2007; 121(11):2373-80.
- Denardo DG, Johansson M. Immune cells as mediators of solid tumor metastasis. *Cancer Metastasis Rev.* 2008; 27:11-8
- Bernstein CN, Blanchard JF, Kliever E, Wajda A. Cancer risk in patients with inflammatory bowel disease: a population-based study. *Cancer.* 2001; 91(4):854-62.
- Tilg H, Adolph TE, Gerner RR, Moschen AR. The intestinal microbiota in colorectal cancer. *Cancer Cell.* 2018; 33:954-64.
- Jess T, Rungoe C, Peyrin-Biroulet L. Risk of colorectal cancer in patients with ulcerative colitis: a meta-analysis of population-based cohort studies. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2012; 10:639-45.
- Dalgleish AG, O'Byrne K. Inflammation and cancer: the role of the immune response and angiogenesis. *Cancer Treatment Res.* 2006; 130:1-38.
- Sugimoto MA, Sousa LP, Pinho V, Perretti M, Teixeira MM. Resolution of inflammation: what controls its onset? *Front Immunol.* 2016; 7:160.
- van Kempen LC, de Visser KE, Coussens LM. Inflammation, proteases and cancer. *Eur J Cancer.* 2006; 42(6):728-34.
- Panigrahy D, Gilligan MM, Serhan CN, Kashfi K. Resolution of inflammation: an organizing principle in biology and medicine. *Pharmacol Ther.* 2021; 227:107879.
- Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature.* 2002; 420(6917):860-7.
- Tan TT, Coussens LM. Humoral immunity, inflammation and cancer. *Curr Opin Immunol.* 2007; 19(2):209-16.
- Buttacavoli M, Di Cara G, Roz E, Pucci-Minafra I, Feo S, Cancemi P. Integrated multi-omics investigations of metalloproteinases in colon cancer: focus on MMP2 and MMP9. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(22):12389.
- Foo SL, Yap G, Cui J, Lim LHK. Annexin-A1: a blessing or a curse in cancer? *Trends Mol Med.* 2019; 25:315-27.
- Shao G, Zhou H, Zhang Q, Jin Y, Fu C. Advancements of Annexin A1 in inflammation and tumorigenesis. *Onco Targets Ther.* 2019; 12:3245-54.
- Vecchi L, Araujo TG, Azevedo F, Mota STS, Avila VMR, Ribeiro MA, Goulart LR. Phospholipase A(2) drives tumorigenesis and cancer aggressiveness through its interaction with Annexin A1. *Cells.* 2021; 10:1472.
- Guzmán-Aránguez A, Olmo N, Turnay J, Lecona E, Pérez-Ramos P, López de Silanes I, Lizarbe MA. Differentiation of human colon adenocarcinoma cells alters the expression and intracellular localization of annexins A1, A2, and A5. *J Cell Biochem.* 2005; 94(1):178-93.
- Schetter AJ, Nguyen GH, Bowman ED, Mathé EA, Yuen ST, Hawkes JE, et al. Association of inflammation-related and microRNA gene expression with cancer-specific mortality of colon adenocarcinoma. *Clin Cancer Res.* 2009; 15(18):5878-87.
- Wang X, Shao G, Hong X, Shi Y, Zheng Y, Yu Y, Fu C. Targeting Annexin A1 as a druggable player to enhance the anti-tumor role of honokiol in colon cancer through autophagic pathway. *Pharmaceuticals (Basel).* 2023; 16(1):70.
- Onozawa H, Saito M, Saito K, Kanke Y, Watanabe Y, Hayase S, et al. Annexin A1 is involved in resistance to 5-FU in colon cancer cells. *Oncol Rep.* 2017; 37(1):235-40.
- Sheikh MH, Solito E. Annexin A1: uncovering the many talents of an old protein. *Int J Mol Sci.* 2018; 19(4):1045.
- Takaoka RTC, Sertório ND, Magalini LPJ, Santos LM, Souza HR, Iyomasa-Pilon MM, Possebon L, Costa SS, Girol AP. Expression profiles of Annexin A1, formylated peptide receptors and cyclooxygenase-2 in inflammation and gastroesophageal neoplasms. *Pathol Res Pract.* 2017; 214(2):181-6.
- Cheng TY, Wu MS, Lin, JT, Lin MT, Shun CT, Huang HY, et al. Annexin A1 is associated with gastric cancer survival and promotes gastric cancer cell invasiveness through the formyl peptide receptor/extracellular signal-regulated kinase/integrin beta-1-binding protein 1 pathway. *Cancer.* 2012; 118(23):5757-67.
- Al-Maghrabi J, Buhmeida A, Emam E, Syrjänen K, Sibiany A, Al-Qahtani M, Al-Ahwal, M. Cyclooxygenase-2 expression as a predictor of outcome in colorectal carcinoma. *World J Gastroenterol.* 2012. 18(15):1793-9.
- Abdullah M, Sudoyo AW, Pranowo BS, Rini D, Sutrisna B, Rani AA. Expression of NF-kappaB and COX-2 in young versus older patients with sporadic colorectal cancer. *Acta Med Indonesiana.* 2009; 41(2):70-4.
- Gao Y, Chen Y, Xu D, Wang J, Yu G. Differential expression of ANXA1 in benign human gastrointestinal tissues and cancers. *BMC Cancer.* 2014; 14:520.
- Coghil AE, Newcomb PA, Campbell PT, Burnett-Hartman AN, Adams SV, Poole EM, Potter JD, Ulrich CM. Prediagnostic non-steroidal anti-inflammatory drug use and survival after diagnosis of colorectal cancer. *Gut.* 2011; 60(4):491-8.
- Ng K, Meyerhardt JA, Chan AT, Sato K, Chan JA, Niedzwiecki D, et al. Aspirin and COX-2 inhibitor use in patients with stage III colon cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2014; 107(1):345.

34. Salem N, Kamal I, Al-Maghrabi J, Abuzenadah A, Peer-Zada AA, Qari Y, et al. High expression of matrix metalloproteinases: MMP-2 and MMP-9 predicts poor survival outcome in colorectal carcinoma. *Future Oncol.* 2016, 12:323–31.
35. Hu C, Peng J, Lv L, Wang X, Zhou Y, Huo J, Liu D. miR-196a regulates the proliferation, invasion and migration of esophageal squamous carcinoma cells by targeting ANXA1. *Oncology letters.* 2019; 17(6):5201–9.
36. Kang H, Ko J, Jang SW. The role of annexin A1 in expression of matrix metalloproteinase-9 and invasion of breast cancer cells. *Biochemical and biophysical research communications.* 2012; 423(1):188–94.

Envio: 21/12/2023

Aceite: 23/03/2024